

Caractéristiques techniques et mode d'emploi

Vivaspin 6 et 20 ml

À usage in vitro uniquement





85032-539-16

Vivaspin 6 et 20 ml – Introduction

Conditions de stockage | Durée de vie
Les colonnes à centrifuger d'ultrafiltration Vivaspin doivent être stockées à température ambiante. Les dispositifs doivent être utilisés avant la date d'expiration figurant sur l'emballage.

Introduction
Les concentrateurs Vivaspin sont des dispositifs d'ultrafiltration jetables destinés à la concentration et | ou la purification des échantillons biologiques. Vivaspin 6 convient aux volumes d'échantillons de 2 à 6 ml et le Vivaspin 20 aux volumes d'échantillons de 20 ml maximum. Les deux modèles intègrent deux membranes verticales pour une vitesse inégalée.

Le Vivaspin 20 comprend un réservoir de diafiltration qui permet le retrait en une seule opération des sels et autres micromolécules contaminantes ainsi qu'un mode pression de gaz pour plus de souplesse et de rapidité de traitement.

Les concentrateurs se distinguent par leur design innovant (brevet américain n° 5 647 990, second brevet en instance), leur facilité d'utilisation, leur rapidité et la récuperation exceptionnelle du concentré.

Fonctionnement de la centrifugeuse
Les concentrateurs Vivaspin s'utilisent sur des rotors mobiles ou à angle fixe pouvant accueillir des tubes inférieurs coniques standard. En une seule rotation, les solutions peuvent être concentrées à plus de 100 ×. Les échantillons sont généralement concentrés de 10 à 30 minutes, avec des récupérations macromoléculaires de plus de 95 %.

La membrane longitudinale et la chambre de concentration à canal étroit assurent des conditions optimales pour des écoulements croisés, même pour les solutions chargées de particules, la force centrifuge écartant les particules et les solides de la membrane et les entraînant vers le fond du dispositif.

Les macromolécules sont recueillies dans une poche imperméable pour cencentrés, entièrement moulée sous la surface de la membrane, éliminant ainsi le risque de séchage.

Fonctionnement par pressurisation
Si aucune centrifugeuse adéquate n'est disponible ou si un seul échantillon doit être traité, le Vivaspin 20 peut être rempli jusqu'à 15 ml et mis sous pression pour obtenir une concentration. Pour accélérer le traitement, la pression peut être associée à la force centrifuge. La « pressionfugation » convient particulièrement aux échantillons visqueux comme le sérum, au traitement à basse température et une durée de traitement minimale.

Équipement nécessaire

A. À utiliser avec la centrifugeuse
1. Centrifugeuse avec rotor mobile ou à angle fixe (minimum 25°).

2. Des pipettes Pasteur ou à volume fixe pour le dépôt et le retrait de l'échantillon.

Dispositif	Support requis
Vivaspin 6	15 ml/17 mm ∅
Vivaspin 20	50 ml/30 mm ∅

B. À utiliser avec la pression (Vivaspin 20 uniquement)
1. Tête de pression Vivaspin 20 (réf. VCA200).

2. Vanne de remplissage pour la tête de pression (réf. VCA005).

3. Régulateur de la pression d'air (Réf. VCA002) ou régulateur équivalent.

À utiliser avec la pression et la centrifugeuse
1. L'ensemble du matériel décrit sous les points A. et B. ci-dessus.

Équipement nécessaire

Équipement nécessaire	Vivaspin 6		Vivaspin 20	
Centrifugeuse				
Type de rotor	Mobile	À angle fixe	Mobile	À angle fixe
Angle minimal du rotor	–	25°	–	25°
Cavité du rotor	Pour des tubes inférieurs coniques de 50 ml (17 mm)		Pour des tubes inférieurs coniques de 15 ml (30 mm)	

Accessoires de pression en option pour le Vivaspin 20	
Régulateur de pression d'air (RPA) avec indicateur de pression, régulateur, vanne de sécurité de surpression, connecteur femelle et extension de 1 m (tuyaux pneumatiques de 4 mm) avec connecteurs mâle et femelle et 1 m d'un tube d'entrée de 6 mm	Réf. VCA002
Vanne de remplissage	Réf. VCA005
Tête de pression VS20	Réf. VCA200
Récupération du concentré	
Type de pipette	À volume fixe ou variable	À volume fixe ou variable
Recommandation	Embout fin pour chargement des gels	Embout fin pour chargement des gels

Compatibilité du rotor
Remarque : le Vivaspin 20 (30 mm × 116 mm) convient aux rotors pouvant accueillir des tubes inférieurs coniques Falcon 50 ml tels que Beckman Allegra 25R avec le rotor rotatif TS-5.1-500 équipé de godets BUC 5 et d'adaptateurs 368327 ; rotor à angle fixe Beckman TA-10.250 25° avec adaptateurs 356966 ; Heraeus Multifuge 3 S-R avec rotor rotatif (Heraeus|Sorvall) 75006445 à godets 75006441 et adaptateurs pour les tubes inférieurs coniques Falcon 50 ml.

Ces dispositifs ne sont pas conçus pour les rotors ne pouvant accueillir que des tubes inférieurs arrondis de 29 mm × 105 mm tels que le Sorvall SS34 et le Beckman JA 20.
Si votre rotor n'accepte que des tubes inférieurs arrondis de 29 mm × 105 mm, utilisez le Vivaspin 15 qui convient aussi bien aux tubes centrifugeurs coniques qu'aux tubes inférieurs arrondis.

Fonctionnement

Dans la centrifugeuse VS6 et 20
1. Sélectionnez la coupure la plus adéquate de la membrane pour votre échantillon. Pour une récupération maximale, sélectionnez une coupure de membrane inférieure d'au moins 50 % à la taille moléculaire de l'espère donnée.

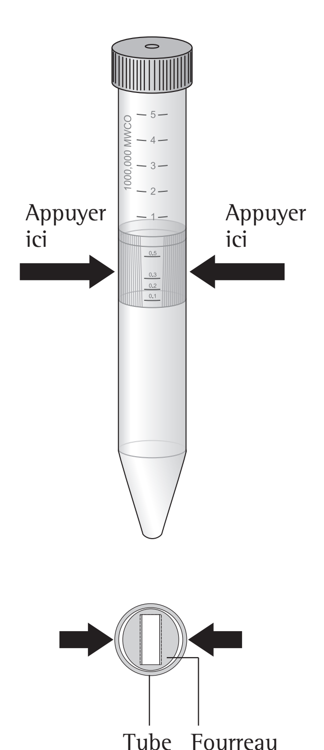
2. Remplissez le concentrateur jusqu'aux volumes maximum indiqués dans le tableau 1. (Vérifiez que le bouchon à vis est bien fermé.)

3. Insérez l'ensemble du concentrateur dans la centrifugeuse (en cas d'utilisation de rotors à angle fixe, la face imprimée doit être orientée vers le haut|l'extérieur).

4. Effectuez la centrifugation aux vitesses recommandées dans le tableau 2, en prenant soin de ne pas dépasser la force g maximale variable selon le type de membrane et la coupure de la membrane.

5. Dès que la concentration souhaitée est atteinte (voir les tableaux 3a et 3b pour connaître les durées de centrifugation), retirez l'ensemble et récupérez l'échantillon au fond de la poche de concentrés à l'aide d'une pipette.

Retrait du corps Vivaspin 6 du tube de filtrat
Le fourreau (vu depuis l'extrémité) est ovale dans la coupe transversale. Le tube est arrondi dans la coupe transversale pour un meilleur ajustement. Pour retirer le tube du fourreau, vous devez le pincer pour qu'il prenne une forme ovale avant de l'enlever par un mouvement de rotation.



Utilisation de la pression de gaz (Vivaspin 20 uniquement)

1. Sélectionnez la membrane adéquate comme ci-dessus.

2. Remplissez le concentrateur (max. 15 ml).

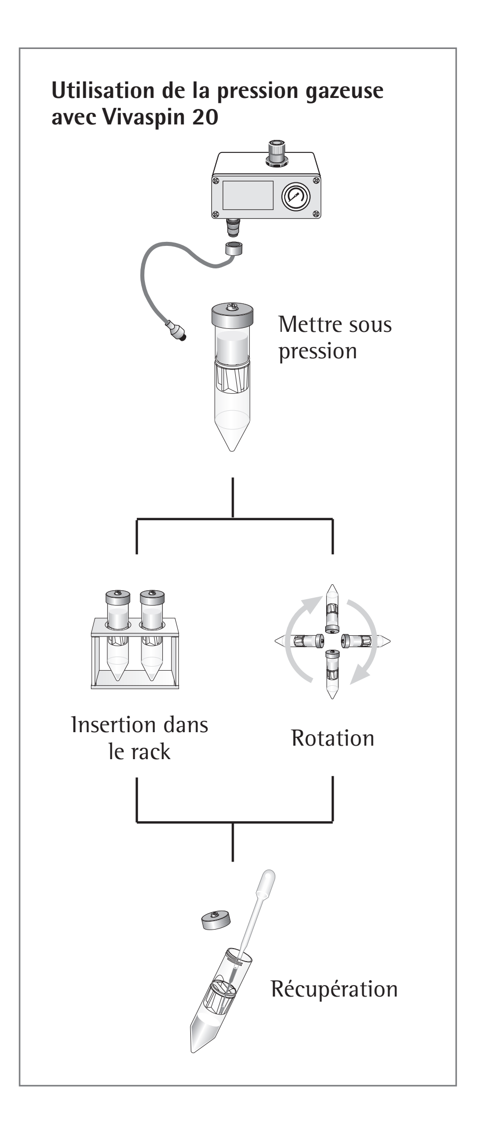
3. Insérez la tête de pression (réf. VCA200) et serrez manuellement pour que le joint soit étanche à l'air.

4. À l'aide du régulateur de pression d'air (RPA), remplacez le couplage femelle par la vanne de remplissage (réf. VCA005) sur l'extension du RPA. Augmentez la pression en insérant la vanne de remplissage dans la vanne d'entrée de la tête de pression pour que le joint soit étanche à l'air.

5. Montez l'ensemble dans un rack et effectuez la concentration.
Ou, pour un traitement plus rapide, insérez le concentrateur sous pression et monté dans la centrifugeuse et tournez (voir le tableau 1 pour les vitesses de rotation).

6. Dès que la concentration souhaitée est atteinte (voir le tableau 3b pour connaître les durées de concentration), retirez l'ensemble et diminuez la pression en dévissant le bouchon.

7. Retirez le concentré à l'aide d'une pipette Pasteur ou à volume fixe.



Dessalage | Changement de tampon
1. Concentrez l'échantillon jusqu'au niveau souhaité.

2. Videz le réservoir de filtrat.

3. Remplissez à nouveau le concentrateur à l'aide d'un solvant adéquat.

4. Concentrez à nouveau l'échantillon et répétez le processus jusqu'à ce que la réduction de la concentration de microsolutés contaminants soit suffisante. Habituellement, trois cycles de lavage vont permettre de réduire de 99 % la teneur en sels initiale.

Dessalage en une seule étape avec Vivaspin 20
Une seule étape suffit pour éliminer les sels et les contaminants à l'aide du réservoir de diafiltration spécial fourni avec le Vivaspin 20. Cela est dû à l'action constante de lavage (dialfiltration de volume constante) de la solution de tampon dans le réservoir à mesure qu'elle remplace les solvants et les sels en traversant la membrane d'ultrafiltration.

1. Introduire 2ml d'échantillon dans le concentrateur. (Les volumes plus élevés peuvent être dessalés en obtenant d'abord une concentration de 2 ml et après décantation du filtrat).

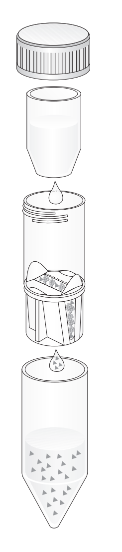
2. Videz le réservoir de filtrat.

3. Introduisez le réservoir de diafiltration dans le concentrateur et ajoutez 10 ml d'eau déionisée ou de solution tampon. Remettez le couvercle bleu sur le réservoir de diafiltration.

4. Répétez le processus de concentration ; plus de 98 % de sels seront éliminés au cours de cette étape.

5. Retirez le réservoir de diafiltration et recueillez l'échantillon concentré et purifié.

Diafiltration Vivaspin 20



Le réservoir de diafiltration est rempli avec la solution tampon (réf. VSA005)

Pendant la concentration, le solvant de l'échantillon est continuellement remplacé par de la solution tampon fraîche.

Les sels et les contaminants sont progressivement éliminés par la membrane, vers le réservoir de filtrat.

Caractéristiques techniques

Tableau 1 : Caractéristiques techniques

	Vivaspin 6	Vivaspin 20
Capacité du concentrateur		
Rotor mobile	6 ml	20 ml
Rotor à angle fixe	6 ml	14 ml
Avec la tête de pression	–	15 ml
Dimensions		
Longueur totale	122 mm –	116 mm 125 mm avec la tête de pression
Largeur	17 mm	30 mm
Zonre active de la membrane	2,5 cm^2	6 cm^2
Volume mort de la membrane	<10 µl	<20 µl
Volume à butée fixe* :	30 µl	50 µl
Matériaux de construction		
Corps	Polycarbonate	Polycarbonate
Cuve de filtrat	Polycarbonate	Polycarbonate
Capuchon du concentrateur	Polypropylène	Polypropylène
Tête de pression	–	Acétal | aluminium
Membrane	Polyéthersulfone	Polyéthersulfone

Tableau 2 : Vitesse de centrifugation recommandée (xg)

Vivaspin 6	**Mobile**	**À angle fixe**	
Membrane	max	max	
3–50 000 coupures de membrane PES	4 000	10 000	
>100 000 coupures de membrane PES	4 000	6 000	
Vivaspin 20	**Centrifugeuse**		**Pression-centrifugation**
Rotor	Mobile	À angle fixe	Mobile (5 bars max.)
Membrane	max	max	max
3–50 000 coupures de membrane PES	5 000	8 000	3 000
>100–300 000 coupures de membrane PES	3 000	6 000	2 000

* Volume à butée fixe comme dessiné dans l'outil de fraisage. Ce volume peut varier selon l'échantillon, la concentration de l'échantillon, la température de fonctionnement et le rotor de la centrifugeuse.

Conseils d'utilisation

1. Débit
La vitesse de filtration varie selon plusieurs paramètres, tels que la coupure de membrane, la porosité, la concentration de l'échantillon, la viscosité, la force centrifuge et la température. Il faut s'attendre à des durées de rotation beaucoup plus longues pour des solutions initiales de plus de 5 % de solides. À une température de fonctionnement de 4°C, les débits sont environ 1,5 fois plus lents qu'à 25°C. Les solutions visqueuses, comme la glycérine à 50 %, prendront jusqu'à 5 fois plus de temps pour se concentrer que les échantillons dans des solutions tampons.

2. Rinçage préalable
Les membranes fixées sur les concentrateurs Vivaspin contiennent des traces de glycérine et d'acide de sodium. Si ces dernièrent affectent l'analyse, elles peuvent être éliminées par rinçage en remplissant le dispositif concentrateur avec une solution tampon ou de l'eau désionisée et en la faisant traverser par la membrane par centrifugation. Eliminez alors filtrat et concentré avant de traiter l'échantillon. Si vous ne souhaitez pas utiliser immédiatement le dispositif pré-rincé, conservez-le au réfrigérateur, la surface de la membrane recouverte de tampon ou d'eau. Ne laissez PAS la membrane sécher.

3. Stérilisation des membranes en polyéthersulfone
Les membranes en polyéthersulfone ne doivent pas être auto-clavées car les hautes températures vont augmenter fortement les seuils de coupure des membranes. Pour les stériliser, utilisez une solution d'éthanol à 70 % ou un mélange gazeux stérilisant.

4. Compatibilité chimique
Les concentrateurs Vivaspin sont destinés à être utilisés avec des fluides biologiques et des solutions aqueuses. Pour obtenir plus d'informations sur la compatibilité chimique, reportez-vous au tableau 4.

Performances

Tableau 3a : Performances Vivaspin 6

	Temps [min.] pour concentrer jusqu'à 30x à 20°C Concentré récupéré en %			
Rotor	Mobile		À angle fixe de 25°	
Volume initial	6 ml		6 ml	
	min.	Réc.	min.	Réc.
Cytochrome c 0,25 mg/ml (12 400 MW)				
3 000 coupures de membrane PES	–	–	90	97 %
BSA 1 mg/ml (66 000 MW)				
5 000 coupures de membrane PES	20	98 %	12	98 %
10 000 coupures de membrane PES	13	98 %	10	98 %
30 000 coupures de membrane PES	12	98 %	9	97 %
IgG 0,25 mg/ml (160 000 MW)				
30 000 coupures de membrane PES	18	96 %	15	95 %
50 000 coupures de membrane PES	17	96 %	14	95 %
100 000 coupures de membrane PES	15	91 %	12	91 %
Particules de latex 0,004 % en DMEM +10 % FCS (0,055 µm)				
300 000 coupures de membrane PES	–	–	25	99 %
Particules de latex 0,004 % en DMEM +10 % FCS (0,24 µm)				
1 000 000 coupures de membrane PES	–	–	4	99 %
Levure 1 mg/ml (S. Cerevisiae)				
0,2 µm PES	4	97 %	3	97 %

Tableau 3b : Performances Vivaspin 20

	Temps [min.] pour concentrer jusqu'à 30x à 20°C Concentré récupéré en %							
Mode	Centrifugeuse		Centrifugeuse		De table		Pression-centrifugation	
Rotor	Mobile		À angle fixe de 25°		Pression		Mobile	
Volume initial	20 ml		14 ml		10 ml		10 ml	
	min.	Réc.	min.	Réc.	min.	Réc.	min.	Réc.
Cytochrome c 0,25 mg/ml (12 400 MW)								
3 000 coupures de membrane PES	110	97 %	180	96 %	60	96 %	–	–
BSA 1 mg/ml (66 000 MW)								
5 000 coupures de membrane PES	23	99 %	29	99 %	50	98 %	14	98 %
10 000 coupures de membrane PES	16	98 %	17	98 %	32	97 %	8	97 %
30 000 coupures de membrane PES	13	98 %	15	98 %	32	97 %	8	97 %
IgG 0,25 mg/ml (160 000 MW)								
30 000 coupures de membrane PES	27	97 %	20	95 %	46	94 %	13	97 %
50 000 coupures de membrane PES	27	96 %	22	95 %	46	93 %	13	96 %
100 000 coupures de membrane PES	25	91 %	20	90 %	42	88 %	12	94 %
Particules de latex 0,004 % en DMEM +10 % FCS (0,055 µm)								
300 000 coupures de membrane PES	20	99 %	35	99 %	10	99 %	–	–
Particules de latex 0,004 % en DMEM +10 % FCS (0,24 µm)								
1 000 000 coupures de membrane PES	4	99 %	12	99 %	4	99 %		
Levure 1 mg/ml (S. Cerevisiae)								
0,2 µm PES	15	95 %	5	95 %	20	95 %	2	95 %

Compatibilité chimique

Tableau 4 : Compatibilité chimique (temps de contact de 2 heures)

Solutions PES	
Plage de pH compatible	**pH 1–9**
Acide acétique (25 %)	OK
Acétone (10 %)	NO
Acétonitrile (10 %)	NO
Hydroxyde d'ammonium (5 %)	?
Hydroxyde d'ammonium (saturé)	OK
Benzène (100 %)	NO
n-Butanol (70 %)	OK
Chloroforme (1 %)	NO
Diméthylformamide (10 %)	?
Diméthylsulfoxide (5 %)	OK
Éthanol (70 %)	OK
Acétate d'éthyle (100 %)	NO
Formaldéhyde (30 %)	OK
Acide formique (5 %)	OK
Glycérine (70 %)	OK
Guanidine HCl (6 M)	OK
Hydrocarbures, aromatiques	NO
Hydrocarbures, chlorés	NO
Acide chlorhydrique (1 M)	OK
Imidazole (500 mM)	OK
Alcool d'isopropyle (70 %)	OK

Solutions PES	
Plage de pH compatible	**pH 1–9**
Acide lactique (5 %)	OK
Mercaptoéthanol (10 mM)	OK
Méthanol (60 %)	?
Acide nitrique (10 %)	OK
Phénol (1 %)	?
Tampon de phosphates (1 M)	OK
Glycol polyéthylénique (10 %)	OK
Pyridine (100 %)	?
Carbonate de sodium (20 %)	?
Désoxycholate de sodium (5 %)	OK
Dodécylsulfate de sodium (0,1 M)	OK
Hydroxyde de sodium	NO
Hypochlorite de sodium (200 ppm)	?
Nitrate de sodium (1,0 %)	OK
Acide sulfamique (5 %)	OK
Tétrahydrofuranne (5 %)	NO
Toluène (1 %)	NO
Acide trifluoroacétique (10 %)	OK
Tween 20 (0,1 %)	OK
Triton X-100 (0,1 %)	OK
Urée (8 M)	OK

OK = Acceptable ? = À tester NO = Non recommandé

Informations de commande

Vivaspin 6 Polyéthersulfone	Conditionnement	Réf.
3 000 coupures de membrane	25	VS0691
3 000 coupures de membrane	100	VS0692
5 000 coupures de membrane	25	VS0611
5 000 coupures de membrane	100	VS0612
10 000 coupures de membrane	25	VS0601
10 000 coupures de membrane	100	VS0602
30 000 coupures de membrane	25	VS0621
30 000 coupures de membrane	100	VS0622
50 000 coupures de membrane	25	VS0631
50 000 coupures de membrane	100	VS0632
100 000 coupures de membrane	25	VS0641
100 000 coupures de membrane	100	VS0642
300 000 coupures de membrane	25	VS0651
300 000 coupures de membrane	100	VS0652
1 000 000 coupures de membrane	25	VS0661
1 000 000 coupures de membrane	100	VS0662
0,2 µm	25	VS0671
0,2 µm	100	VS0672
Pack starter (5 de chaque 5 K, 10 K, 30 K, 50 K, 100 K)	25	VS06S1

Vivaspin 6 Polyéthersulfone	Conditionnement	Réf.
3 000 coupures de membrane	12	VS2091
3 000 coupures de membrane	48	VS2092
5 000 coupures de membrane	12	VS2011
5 000 coupures de membrane	48	VS2012
10 000 coupures de membrane	12	VS2001
10 000 coupures de membrane	48	VS2002
30 000 coupures de membrane	12	VS2021
30 000 coupures de membrane	48	VS2022
50 000 coupures de membrane	12	VS2031
50 000 coupures de membrane	48	VS2032
100 000 coupures de membrane	12	VS2041
100 000 coupures de membrane	48	VS2042
300 000 coupures de membrane	12	VS2051
300 000 coupures de membrane	48	VS2052
1 000 000 coupures de membrane	12	VS2061
1 000 000 coupures de membrane	48	VS2062
0,2 µm	12	VS2071
0,2 µm	48	VS2072
Pack starter (2 de chaque 5 K, 10 K, 30 K, 50 K, 100 K ; 0,2 µm)	12	VS20S1

Accessoires du Vivaspin 20	Conditionnement	Réf.
Régulateur de pression d'air (RPA)	1	VCA002
Vanne de remplissage pour la tête de pression	1	VCA005
Réservoirs de diafiltration	12	VSA005
Connecteur femelle	1	VCA010
Connecteur mâle	1	VCA011
Tube pneumatique OD de 4 mm (3 m)	1	VCA012
Tête de pression Vivaspin 20	1	VCA200

Sartorius Stedim Biotech GmbH
August-Spindler-Strasse 11
37079 Goettingen, Allemagne

Téléphone +49.551.308.0
Fax +49.551.308.3289
www.sartorius.com

Date :
janvier 2014,
Sartorius Stedim Biotech GmbH,
Goettingen, Allemagne

Imprimé en EU sur papier blanchi
sans chlore. | W
N° de publication : SLU6092-f140104
Ver. 01 | 2014